

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE LYON

ANNÉE 1980 — N° 51

Albendazole : Étude embryotoxique de dix métabolites

(Comparaison avec l'embryotoxicité de relais)

THÈSE

PRÉSENTÉE

A L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD DE LYON

(Médecine - Pharmacie)

ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 2 JUIN 1980

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

par

MARTIN Didier



IMPRIMERIE DES BEAUX-ARTS
J. TIXIER & FILS, 19, RUE ROUX-SOIGNAT, LYON

1980

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE LYON

ANNÉE 1980 — N°

Albendazole : Étude embryotoxique de dix métabolites

(Comparaison avec l'embryotoxicité de relais)

THÈSE

PRÉSENTÉE

A L'UNIVERSITÉ CLAUDE BERNARD DE LYON

(Médecine - Pharmacie)

ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 2 JUIN 1980

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR VÉTÉRINAIRE

par

MARTIN Didier



IMPRIMERIE DES BEAUX-ARTS
J. TIXIER & FILS, 19, RUE ROUX-SOIGNAT, LYON

1980



PERSONNEL ENSEIGNANT
DE L'ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE LYON

Directeur : M. le Professeur COTTEREAU

Directeurs Honoraires : MM. les Professeurs TAPERNOUX, FLORIO, FROGET

PROFESSEURS

1. Pharmacie et Toxicologie	M. LORGUE
2. Anatomie descriptive, Extérieur, Anatomie appliquée	M. BARONE
3. Physiologie, Thérapeutique, Pharmacodynamie	M. BOST
4. Histologie, Embryologie, Anatomie pathologique ..	M. TISSEUR
5. Hygiène et Industrie des aliments d'origine animale	M. CHANTEGRELET
6. Parasitologie et Maladies parasitaires	M. EUZEBY
7. Pathologie médicale des Equidés et des Carnivores, Législation vétérinaire	M. FONTAINE
8. Pathologie médicale du bétail et des animaux de basse-cour	M. COTTEREAU
9. Technique chirurgicale, Pathologie chirurgicale	M. COULON
10. Obstétrique, Pathologie de la Reproduction	M. BERTRAND
11. Pathologie générale, Microbiologie, Immunologie ..	M. OUDAR
12. Ethnologie, Zootechnie, Economie rurale	M. FROGET
13. Botanique appliquée, Agronomie, Alimentation	M. WOLTER
14. Physique et Chimie biologiques et médicales	M. DELATOUR
15. Maladies contagieuses, Zoonoses, Législation sanitaire	M. JOUBERT

PROFESSEURS SANS CHAIRES

MM. BOIVIN, DESCHANEL, GASTELLU, JEAN-BLAIN, LAPRAS, Mlle LAVAL,
MM. LE NIHOUANEN, PRAVE

MAITRES-ASSISTANTS AGRÉGÉS

MM. FRANCK, KECK

MAITRES-ASSISTANTS

M. BELLI, Mme CHAUVÉ, M. CHOMEL, Mlle COURSAT,
MM. DEMONT, DENOIX, EUZEBY, FAU, GARNIER, GEVREY, GOUY,
JAUSSAUD, LEGEAY, NEYRET, Mme RACHAIL, M. RICHARD

ASSISTANTS

MM. BENOIT, BEZEAUD, Mme CHAPPUIS, M. CHARLET, Mlle FAUBLEE,
Mme FURNEL, MM. FRESNAY, GENIN, Mme HACHLER, MM. LE FOURNIER,
MAY, NGO TAN, Mlle RAGUIN, MM. THIEBAULT, THIEVENAZ

EXAMINATEURS DE LA THÈSE

Président :	M. le Professeur FAUCON de la Faculté de Médecine de Lyon
Premier Assesseur :	M. le Professeur DELATOUR de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon
Deuxième Assesseur :	M. le Professeur CHANTEGRELET de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon
Troisième Assesseur :	M. le Professeur FERRANDO de l'Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort

L'Université Claude Bernard (Médecine-Pharmacie) de LYON et l'Ecole Nationale Vétérinaire de LYON déclarent que les opinions émises dans les dissertations qui leur sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs et qu'elles n'entendent leur donner ni approbation ni improbation.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

ALBENDAZOLE : ÉTUDE EMBRYOTOXIQUE
DE DIX MÉTABOLITES.

(COMPARAISON AVEC L'EMBRYOTOXICITÉ DE RELAIS)

A Monsieur le Professeur FAUCON

De la Faculté de Médecine de Lyon

Qui nous a fait le grand honneur d'accepter
la présidence du Jury de notre thèse.

Hommages respectueux.

A Monsieur le Professeur FERRANDO

De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Maisons-Alfort

Hommages respectueux.

A Monsieur le Professeur DELATOUR

De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

Qui a bien voulu nous prodiguer ses conseils
et nous diriger dans notre travail.

Témoignage de notre profonde gratitude.

A Monsieur le Professeur CHANTEGRELET

De l'Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon

Qui nous a fait l'honneur de juger notre
travail.

Sincères remerciements.

TRAVAIL RÉALISÉ AU :

Laboratoire de Biochimie

(Professeur Paul DELATOUR)

ÉCOLE NATIONALE VÉTÉRINAIRE DE LYON

69260 CHARBONNIÈRES - FRANCE

AVEC LA COLLABORATION DU :

Applebrook Research Center - SKF

(Roger PARISH Ph.D.)

1600 Paoli Pike

West Chester, Pa 19380, U.S.A.

grâce à une subvention de :

La Délégation Générale à la Recherche
Scientifique et Technique (DGRST)

35, rue Saint-Dominique - 75700 PARIS

(Décision d'Aide n° 78-6-0628)

SOMMAIRE

INTRODUCTION	15
CHAPITRE PREMIER. — Résidus et hygiène alimentaire	17
Définitions	17
Nature des résidus	17
Evaluation toxicologique des résidus	20
CHAPITRE II. — L'Albendazole	23
Propriétés physico-chimiques	23
Toxicité	24
Activité anthelminthique	24
CHAPITRE III. — Expérimentation	25
A. - Principe	25
B. - Protocole expérimental	25
— Animaux d'expérience	25
— Métabolites étudiés	26
— Traitement des animaux	29
— Lecture des résultats	30
C. - Résultats	31
D. - Interprétation et commentaires	31
E. - Investigations complémentaires	32
F. - Conclusions	42
CHAPITRE IV. — Confrontation de l'embryotoxicité de relais avec l'embryotoxicité individuelle des métabolites	43
CONCLUSION GÉNÉRALE	47
BIBLIOGRAPHIE	49

INTRODUCTION

Instruits par quelques événements récents, les toxicologues ont appris que les aliments pouvaient apporter à l'Homme des substances nocives naturelles ou artificielles. Les sources de pollution de la chaîne alimentaire sont innombrables. L'une d'elles est constituée par les médicaments vétérinaires susceptibles d'abandonner dans les tissus et organes des animaux d'élevage des résidus contaminant les viandes, le lait et les œufs destinés à la consommation humaine.

D'où l'intérêt porté à ces problèmes par les Administrations Nationales ayant pour charge la sauvegarde de la santé (Food and Drug Administration aux U.S.A., Pharmacopée Française...).

Une situation idéale serait que toute denrée alimentaire soit parfaitement dépourvue de toute substance étrangère à sa « qualité substantielle » (Loi Française sur la Répression des Fraudes du 1^{er} Août 1905). De nombreux arguments permettent de démontrer que cet objectif est théoriquement et pratiquement hors d'atteinte.

La notion de Dose Sans Effet (DSE) reconnue aujourd'hui pour tous les agents offrant les formes de toxicité les plus diverses autorise à admettre une doctrine plus souple selon laquelle un certain niveau résiduel est tolérable dans les denrées alimentaires d'origine animale sous réserve que des études appropriées permettent d' « éliminer tous risques pour la santé de l'homme » (Loi Française sur la Pharmacie Vétérinaire du 29 Mai 1975 et textes d'application). Ainsi se pose désormais la question complexe de l'évaluation toxicologique des résidus.

Le présent travail expérimental, dont la préoccupation est essentiellement méthodologique, se propose d'apporter une contribution originale en comparant les résultats de la toxicité de relais avec ceux de l'exploration toxicologique individuelle de 10 des 12 métabolites d'un modèle expérimental appartenant à la classe des anthelminthiques.

CHAPITRE I

RÉSIDUS ET HYGIÈNE ALIMENTAIRE

DÉFINITIONS

Selon l'Arrêté Interministériel du 4 juillet 1977 «... on « entend par **Résidus** tous les principes actifs ou leurs métabolites qui subsistent dans les viandes ou autres denrées alimentaires provenant de l'animal auquel le médicament en question a été administré.

« L'étude des résidus a pour objet de déterminer si, et « éventuellement sous quelles conditions et en quelle mesure, « des résidus subsistent dans les denrées alimentaires provenant « de animaux traités ainsi que les délais d'attente qui doivent « être respectés, pour éliminer tous risques pour la santé de « l'homme et/ou des inconvénients pour la transformation industrielle des denrées alimentaires. »

NATURE DES RÉSIDUS

En matière de résidus, on distingue schématiquement :

a) **les résidus totaux** dont l'évaluation quantitative résulte,

par définition, du comptage de la radioactivité tissulaire après administration à l'animal d'expérience d'une molécule marquée.

Ces résidus totaux sont eux-mêmes fractionnables en :

b) **Résidus extractibles** : ils représentent à la fois la substance initiale non modifiée et ses métabolites immédiats en solution dans les liquides biologiques, ou éventuellement liés par des liaisons non covalentes, donc réversibles, aux autres structures chimiques de l'organisme.

On connaît par exemple 14 métabolites pour le cambendazole (VANDEN HEUVEL et al. 1978) alors que la dégradation de la phénylbutazone est à l'origine de la formation de trois métabolites principaux.

Quantitativement, du fait d'une demi-vie généralement brève, ce type de résidus ne forme rapidement (au bout de 3 à 5 jours) qu'une proportion faible ou négligeable au sein des résidus totaux.

c) **Les résidus non extractibles ou liés** :

Les méthodes de séparation des molécules marquées par radioéléments permettent de distinguer au sein de cette catégorie :

- * des constituants chimiques dus à la fixation covalente de métabolites ou de fragments de métabolites sur divers constituants biologiques de l'organisme, essentiellement protéiques.

- * des constituants physiologiques nés de l'incorporation dans les voies des métabolismes intermédiaires de radicaux marqués libérés par la dégradation profonde de la substance-mère.

— La première éventualité est illustrée par le cas de la TCPH (p-toluoyl-chlorophénylhydrazone). Lorsqu'on administre cet anthelminthique uniformément marqué sur le noyau phénylhydrazine, au mouton, on assiste à une fixation particulière de la radioactivité dans le sang circulant (JAGLAN et al. 1976), (JAGLAN et al. 1977). Cette fixation se fait de façon quasi-sélective sur l'hémoglobine des érythrocytes : 49 % sur la globine

(concentration partielle = 71,5 ppm) et 20 % sur l'hème (concentration partielle = 700 ppm). Ce phénomène n'apparaît absolument pas quand la molécule est marquée au ^{14}C sur sa fraction toluoyl. L'oxydation de l'hémoglobine ainsi greffée donne naissance à de l'acide benzoïque radioactif, ce qui démontre que le noyau aromatique du fragment phénylhydrazine de l'anthelminthique se fixe sur l'hème de la globine par une liaison covalente C-C.

Un autre exemple nous est fourni par le cambendazole. Le double marquage de la molécule (H^3 sur la chaîne latérale et C-14 dans le noyau aromatique) permet de retrouver, 7 jours après traitement, à la fois dans le muscle, le rein et le foie un rapport H_3/C_{14} très voisin de celui de la molécule de départ (BAER et al. 1977). D'autres techniques mises en œuvre sur les résidus liés hépatiques (traitement par l'acide nitrique concentré ou par l'association acide nitrique + acide pertrifluoroacétique) donne naissance à des produits de dégradation (respectivement : acide imidazole-dicarboxylique et nitro-5, benzimidazole) qui permettent de se faire une idée sur la nature chimique du résidu lié. Il s'agirait donc d'un noyau benzimidazole substitué en 5 par une chaîne isopropyl-carbamate inchangée ou peu modifiée ; cet édifice étant fixé sur la protéine par l'intermédiaire du reste thiazolyl dont l'état d'intégrité reste méconnu.

— En ce qui concerne la formation de constituants physiologiques normaux, on peut citer le cas du C-14 vinyl-dichlorvos. En effet, lors d'administration de ce produit au porc, on assiste à la formation des composés radioactifs suivants : CO_2 expiré, et au niveau du foie et du muscle : glycine, sérine, glucose, cholestérol, acides gras et RNA (PAGE et al. 1971).

Le dichlorvos marqué au Cl-36 abandonne dans les liquides biologiques du Cl-36 ionique (PAGE et al. 1971). Chez la même espèce animale, l'inhalation de P-32 dichlorvos est à l'origine d'apparition de phosphate inorganique circulant (LOEFFLER et al. 1971).

De même, chez le poulet nourri par un aliment supplémenté en Nihydrazone, l'équilibre résiduel tissulaire est atteint en 4

jours. Après cessation de la supplémentation, la déplétion résiduelle est biphasique dans le foie et le rein (HERRET et al. 1967). La balance de la radioactivité s'établit ainsi :

$$\text{CO}_2 = 2,5 \%$$

$$\text{Excrétats} = 100,4 \%$$

$$\text{Rétention} = 2,1 \%$$

La rétention tissulaire de radio-carbone est distribuée comme suit : acide glutamique, glycine, cystine, sérine, acide aspartique, tyrosine, glycogène, acide alpha-cétoglutarique...

Des exemples analogues sont connus tant chez les oiseaux que chez les mammifères à propos notamment du dichlorvos (HUTSON et al. 1971) et de la nitroglycérine chez le rat (DI CARLO et al. 1969), du parabendazole chez le mouton (DI CUOLLO et al. 1974), du cambendazole chez le bœuf (BAER et al. 1977), du thiabendazole chez le veau (ROSENBLUM et al. 1964), (SOSENBLUM, 1965), du ronidazole chez la dinde (ROSENBLUM et al. 1972).

Ce phénomène constaté dans de nombreuses espèces avec des substances chimiques très diverses, semble avoir valeur générale.

ÉVALUATION TOXICOLOGIQUE DES RÉSIDUS

L'Arrêté Ministériel du 4 Juillet 1977 précise que :

« L'étude de la toxicité des résidus par voie orale et con-
« duite de manière différente suivant qu'il s'agit d'un médicament
« éliminé sans transformation, ou d'un médicament métabolisé.
« Dans le premier cas, il est possible d'opérer directement sur
« le médicament. Dans le second cas, il faut opérer de même sur
« les principaux métabolites que l'on retrouve principalement
« dans les denrées alimentaires. Lorsque ceux-ci ne peuvent être
« isolés ou synthétisés, il est fait recours à l'étude de la Toxicité

« de Relais qui consiste à opérer avec des tissus dans lesquels
« a été décelé le plus de résidus, ou avec les produits des ani-
« maux traités. »

Il faut d'abord observer que « le médicament éliminé sans transformation » n'existe pratiquement pas.

Le législateur prévoit alors deux méthodes possibles pour l'évaluation de la toxicité des résidus :

a) La première est l'étude toxicologique des différents métabolites. Le texte de loi précise qu'« il faut opérer sur les principaux métabolites que l'on retrouve dans les denrées alimentaires ». Or, on ne peut écarter l'éventualité d'un métabolite formé en faible quantité mais hautement toxique. Cette distinction entre métabolites « majeurs » et « mineurs » est donc « sans fondement biologique rationnel » (WEINER et NEWBERNE, 1977). De plus, la distribution tissulaire d'un métabolite administré par voie orale peut être très différente de celle de ce même métabolite lorsqu'il est formé dans l'organisme (WEINER et NEWBERNE, 1977).

b) La seconde méthode préconisée est la méthode de « Toxicité de Relais » (FERRANDO et TRUHAUT, 1972). Elle a pour principe l'évaluation de la toxicité des viandes et/ou des organes des animaux traités contenant l'ensemble des résidus. « L'examen des influences de ces complexes sur les animaux de laboratoire est très proche de ce qui peut survenir chez le consommateur. Il tient compte du relais animal placé entre eux et l'additif » (FERRANDO et TRUHAUT, 1978) ou le médicament.

Le corollaire de cette méthode est l'obtention d'un coefficient de sécurité suffisant permettant l'extrapolation de l'animal à l'homme.

Trois paramètres interviennent dans son calcul :

I - Le coefficient de consommation comparée (CCC) : il tient compte du fait que durant l'expérimentation, l'animal de laboratoire est amené à consommer une grande quantité de

viande ou de viscères issus d'animaux traités, alors que la consommation journalière de l'homme est relativement faible.

2 - Le coefficient de période de retrait (CPR) ou bien le coefficient de déplétion résiduelle en fonction du temps (CDR). En effet, l'abattage des animaux recevant les substances chimiques survient le plus souvent longtemps après l'administration, ou après l'arrêt de l'administration (cas des additifs alimentaires) de ces substances. Or, durant cette période, on assiste à la diminution du niveau résiduel.

3 - Le coefficient de dose d'emploi tient compte de la différence entre la dose thérapeutique utilisée chez l'animal de destination et la dose expérimentale mise en œuvre. Il n'existe pas de relation constante entre la dose administrée aux animaux et la quantité de résidus retrouvée dans leur organisme.

Ainsi, dans le cas du Carbadox (Mecadox N.D.), utilisé comme facteur de croissance chez le porc, il y a proportionnalité entre la quantité ingérée et le niveau résiduel pour des doses de 20,50, 200 mg de Carbadox par kg d'aliment (FERRANDO, TRUHAUT, RAYNAUD et SPANOGHE, 1975).

A l'opposé, dans le cas d'un anthelminthique dérivé du benzimidazole, pour des doses comprises entre 2,7 mg/kg et 6,0 mg/kg, aucune corrélation ne peut être mise en évidence avec les teneurs en résidus hépatiques chez le veau (résultats expérimentaux non publiés).

La situation générale est représentée par des schémas intermédiaires entre ces deux cas extrêmes.

La méthode Toxicité de Relais permet donc l'étude toxicologique de l'ensemble des résidus, alors que l'approche toxicologique des différents métabolites abordera quant à elle le problème de la seule fraction extractible.

CHAPITRE II

L'ALBENDAZOLE

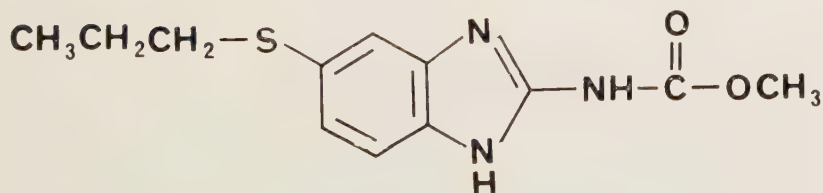
PROPRIÉTÉS PHYSICO-CHIMIQUES

L'albendazole se présente sous la forme d'une poudre blanche, inodore, insoluble dans l'eau et la plupart des solvants organiques. Son point de fusion est de l'ordre de 214-215° C, avec décomposition (THEODORIDES et al. 1976).

Du point de vue chimique, il s'agit du

N (propylthio-5, benzimidazolyl) 2, carbamate de méthyle.

Sa masse molaire est de 265,3.



TOXICITÉ

Les doses maximales tolérées sont, chez les bovins de 75 mg/kg et chez les ovins de 37,5 mg/kg.

Les posologies sont de 5,0 mg/kg pour un effet strongylicide et de 7,5 mg/kg pour un effet douvicide. Ainsi, aux doses thérapeutiques préconisées, l'indice de sécurité est supérieur à 5.

ACTIVITÉ ANTHELMINTHIQUE

Il s'agit d'un anthelminthique à large spectre. En effet, à des posologies comprises entre 5 et 7,5 mg/kg administrées oralement, il est actif contre la grande majorité des helminthes des ruminants :

— Nématodes gastro-intestinaux

Formes adultes

Haemonchus, Ostertagia, Trichostrongylus, Strongyloïdes, Nematodirus, Cooperia, Bunostomum, Capillaria, Oesophagostomum, Chabertia (HERLICH, 1977), (ROSS, 1978), (THEODORIDES et al. 1976).

Formes larvaires

Larves de stade 4 d'Ostertagia, Trichostrongylus, Cooperia, Haemonchus (WILLIAMS, 1977).

— Nématodes pulmonaires

Dictyocaulus (THEODORIDES et al. 1976)

— Cestodes

Moniezia (THEODORIDES et al. 1976).

De plus, et cela fait son originalité, ce produit est actif contre les formes adultes et à un degré moindre contre les formes immatures de *Fasciola hepatica* (KNIGHT et al. 1977) ainsi que contre *Dicrocoelium lanceolatum* (résultats non publiés).

CHAPITRE III

EXPÉRIMENTATION

A. — PRINCIPE

Le programme d'investigation consiste à tester séparément chez le rat l'embryotoxicité éventuelle des métabolites de l'Albendazole après identification chez les animaux de destination puis synthèse d'échantillons.

B. — PROTOCOLE EXPÉRIMENTAL

Animaux

Il s'agit de rates albinos Sprague-Dawley (souche OFA), issues de la colonie IFFA-CREDO, élevées en zone protégée à l'état IOPS (SPF), primipares, d'un poids compris entre 210 et 220 g lors de la mise en expérience.

Les femelles sont acquises par lots d'accouplements synchronisés. Dès réception, elles sont entretenues en module à renouvellement d'air, température, hygrométrie et éclairage contrôlés.

Métabolites étudiés

Les études métaboliques ont été réalisées à Applebrook Research Center à l'aide d'Albendazole marqué au radio-C, chez les espèces suivantes : bovins, ovins, rats et souris.

Les méthodes d'isolement et d'identification des métabolites ont mis en œuvre des techniques classiques :

- Hydrolyse enzymatique des métabolites conjugués
- Extraction par solvants non miscibles à l'eau (acétate d'éthyle)
- Séparation par CCM (Chromatographie sur couche mince)
- Localisation des spots par autoradiographie
- Détermination structurale par méthodes spectrales (U.V., I.R., R.M.N., spectrométrie de masse).

Il est à remarquer que chez les quatre espèces étudiées, la structure des métabolites urinaires identifiés est pratiquement identique tandis que leurs proportions relatives sont remarquablement fixes.

L'étude structurale de ces différents métabolites a permis de leur allouer les constitutions chimiques suivantes, détaillées dans le tableau I :

- métabolite P : N (propylthio-5, benzimidazolyl) 2, carbamate de méthyle = (albendazole inchangé)
- métabolite A : N (propylsulfonyl-5, benzimidazolyl) 2, carbamate de méthyle
- métabolite A' : N (méthylthio-5, benzimidazolyl) 2, carbamate de méthyle
- métabolite B : N (hydroxy-6, propylsulfonyl-5, benzimidazolyl) 2, carbamate de méthyle
- métabolite C : N (propylsulfoxy-5, benzimidazolyl) 2, carbamate de méthyle

- métabolite D : structure inconnue
- métabolite E : N (2'-hydroxy, propylsulfonyl-5, benzimidazolyl) 2, carbamate de méthyle
- métabolite F : N (méthylsulfoxy-5, benzimidazolyl) 2, carbamate de méthyle
- métabolite G : N (3'-hydroxy, propylsulfonyl-5, benzimidazolyl) 2, carbamate de méthyle
- métabolite H : amino-2, méthyl-3, propylsulfonyl-5, benzimidazole
- métabolite I : amino-2, propylsulfonyl-5, benzimidazole
- métabolite J : amino-2, propylsulfoxy-5 benzimidazole.

A ces 12 métabolites, doit être associé le composé suivant, non identifié dans les urines, qui est un intermédiaire transitoire possible entre le métabolite P et le métabolite J :

- propylthio-5, amino-2, benzimidazole (métabolite X).

Ces composés ont été isolés et quantifiés dans un pool urinaire de bovin entre la 7ème et la 48ème heure après administration du médicament. Leurs proportions respectives sont les suivantes :

métabolite P	2 %
A	19 %
A'	2 %
B	8 %
C	28 %
D	7 %
E	8 %
F	1 %
G	1 %
H	1 %
I	23 %
J	1 %

TOTAL 101 % de la radioactivité urinaire.

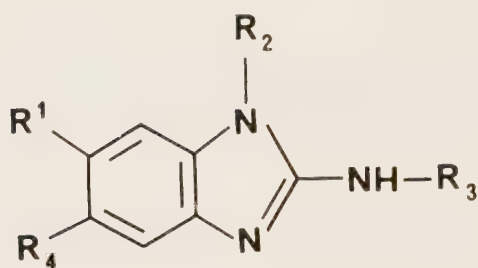


TABLEAU I

STRUCTURE CHIMIQUE DES MÉTABOLITES URINAIRES
DE L'ALBENDAZOLE

métabolite	groupements substituants
P	$R_1 = \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{—S—}$ $R_3 = \text{CO—O—CH}_3$
A	$R_1 = \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{—SO}_2$ $R_3 = \text{CO—O—CH}_3$
A'	$R_1 = \text{CH}_3\text{—S—}$ $R_3 = \text{CO—O—CH}_3$
B	$R_1 = \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{—SO}_2\text{—}$ $R_3 = \text{—CO—O—CH}_3$ $R_4 = \text{OH—}$
C	$R_1 = \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{—SO—}$ $R_3 = \text{—CO—O—CH}_3$
E	$R_1 = \text{CH}_3\text{—CHOH—CH}_2\text{—SO}_2\text{—}$ $R_3 = \text{—CO—O—CH}_3$
F	$R_1 = \text{CH}_3\text{—SO—}$ $R_3 = \text{—CO—O—CH}_3$
G	$R_1 = \text{CH}_2\text{OH—CH}_2\text{CH}_2\text{—SO}_2$ $R_3 = \text{—CO—O—CH}_3$
H	$R_1 = \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{—SO}_2\text{—}$ $R_2 = \text{CH}_3\text{—}$ $R_3 = \text{H}$
I	$R_1 = \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{—SO}_2\text{—}$ $R_3 = \text{—H}$
J	$R_1 = \text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{—SO—}$ $R_3 = \text{—H}$

En somme, la radioactivité urinaire est chimiquement identifiée à concurrence d'environ 93 %. Seul le métabolite D, représentant 7 %, reste non identifié.

Traitement des animaux

Les animaux reçoivent le médicament testé par sondage gastrique, tous les jours à la même heure, entre le 8ème et le 15ème jour de gestation (le jour de la découverte du bouchon vaginal étant le jour J₁).

Celui-ci est administré sous forme d'une suspension aqueuse en concentration telle que le volume administré soit 1 ml/200 g de poids vif.

Afin d'ajuster aussi parfaitement que possible la dose à chaque animal, chaque rate est, en période de traitement, individuellement pesée chaque jour immédiatement avant intubation gastrique.

Par ailleurs, afin d'assurer une bonne comparaison de toxicité d'un composé à l'autre, les doses journalières administrées ne sont pas équipondérales mais équimolaires. Les doses sont donc des multiples ou des fractions simples de D :

$$D = M \cdot 10^{-4} / \text{kg}$$

Dans ces conditions, le programme des posologies adoptées est le suivant :

Métabolite P p.m. = 265		DOSE D/5 =	5,30 mg/kg
			= 6,00
		D/4 =	6,62
		D/3 =	8,83
		D/2,5 =	10,60
		D/2 =	13,25
Métabolite C p.m. = 281		DOSE D/5 =	5,62 mg/kg
			= 6,00
		D/4 =	7,02
		D/3 =	9,36
		D/2,5 =	11,24
		D/2 =	14,05

Métabolite A p.m. = 297		DOSE D = 29,7	mg/kg
		2 D = 59,4	
Métabolite X p.m. = 207		DOSE 2 D = 41,4	mg/kg
Métabolite J p.m. = 223		DOSE 2 D = 44,6	mg/kg
Métabolite I p.m. = 239		DOSE D = 23,9	mg/kg
		2 D = 47,8	
		4 D = 95,6	
Métabolite H p.m. = 253		DOSE 2 D = 50,6	mg/kg
Métabolite F p.m. = 253		DOSE D/3 = 8,43	mg/kg
		2 D = 50,6	
Métabolite B p.m. = 313		DOSE D = 31,3	mg/kg
		2 D = 62,6	
Métabolite E p.m. = 313		DOSE D = 31,3	mg/kg
		2 D = 62,6	

Lecture des résultats

Le 21ème jour de gestation, les rates sont sacrifiées. On procède alors pour chaque femelle, puis par lot :

- au dénombrement des implantations utérines,
- au dénombrement des foetus à terme,
- à la pesée individuelle des foetus,
- à l'examen morphologique des foetus en vue du dépistage des malformations externes. La totalité des foetus est alors fixée dans l'éthanol durant 10 à 12 jours,
- à l'éviscération, à l'éclaircissement puis à la coloration du squelette (selon la technique de DAWSON, 1926) en vue de l'établissement de l'inventaire des anomalies osseuses, ainsi que des variations squelettiques.

N.B. : des investigations antérieures réalisées avec d'autres représentants de la même famille chimique ayant montré que les anomalies squelettiques sont beaucoup plus fréquentes et plus

spécifiques que les anomalies viscérales, ces dernières n'ont pas été recherchées dans le souci de mieux préciser la valeur de la Dose Sans Effet.

De ces constatations, on déduit alors, par lot :

- le nombre de femelles gestantes,
- le nombre d'implantations utérines,
- le rapport nombre d'implantations/femelles,
- le nombre de fœtus à terme,
- le rapport nombre de fœtus/femelles,
- le taux (%) d'embryoléthalité,
- l'incidence (nombre et %) des anomalies osseuses,
- l'incidence (nombre et %) des variations squelettiques,
- le poids moyen de la portée (n , s),
- le poids moyen des fœtus (n , s).

C. — RÉSULTATS

Les résultats sont rassemblés dans le tableau II. Les différents paramètres sont regroupés selon les critères :

- embryoléthalité,
- tératogénicité,
- fœtotoxicité,

auxquels ont été joints les chiffres relatifs à la fréquence des côtes surnuméraires (14ème côte), seule variation dont l'incidence est éventuellement reliée à la dose.

D. — INTERPRÉTATION ET COMMENTAIRES

Parmi les 10 métabolites étudiés, 8 d'entre eux sont dénués, même à forte posologie, d'activité embryotoxique.

Il s'agit des métabolites A, X, J, I, H, F, B et E pour lesquels on n'observe ni effet embryoléthale, ni effet tératogène. Une mention particulière doit être faite à propos du métabolite E pour lequel à la dose 2 D, un net déficit pondéral des fœtus est observé en l'absence de toute autre manifestation toxique.

En revanche, deux d'entre eux sont embryotoxiques (à la fois : embryoléthaux, tératogènes et fœtotoxiques). Il s'agit des métabolites P (albendazole inchangé) et C, pour lesquels l'effet-dose est très net. Pour chacun de ces deux composés d'élimination urinaire, la dose maximale sans effet est de 6,00 mg/kg. Au-delà, de grandes variations des paramètres embryotoxiques sont notées à l'intérieur d'une gamme de posologie établie en six points entre D/5 et D/2.

Ces constatations sont en plein accord avec les règles de la relation structure-toxicité dégagées antérieurement dans cette famille chimique (P. DELATOUR et Coll. 1976).

Qualitativement, la nature des malformations observées est identique pour ces deux composés. L'éventail des principales malformations enregistrées est le suivant :

- malformations externes : brachyurie, exencéphalie et ménincocele, ectrodactylie et syndactylie, bec-de-lièvre, ectocardie, etc...
- malformations osseuses : corps vertébraux bipartites, fusion vertébrale, fusion costale, anomalie d'ossification de l'interpariétal, etc...

E. — INVESTIGATION COMPLÉMENTAIRE

La confrontation des résultats embryotoxiques obtenus avec les métabolites P et C et avec une série des benzimidazolyl-carbamates testés parallèlement indique que l'albendazole lui-même devrait être atoxique si l'on admet les règles de la relation structure/toxicité.

TABLEAU II

**EMBRYOTOXICITÉ CHEZ LE RAT SPRAGUE-DAWLEY
DE 10 MÉTABOLITES DE L'ALBENDAZOLE**

COMPOSE Dose Orale D = mg/kg	Nb Rates	Embryoléthali- té Fœtus/Implant. (%)	Pds (g) Fœtus m (s)	Anomalies		14ème côte n (%)
				Externes n (%)	Osseuses n/N (%)	
CONTROLE	36	434/467 (7,1)	3,90 (0,31)	1 (0,2)	5/369 (1,4)	5/369 (1,4)
Métabolite P						
D/5 = 5,30	23	297/316 (6,0)	3,89 (0,42)	1 (0,3)	5/296 (1,7)	12/296 (4,1)
= 6,00	14	187/196 (4,6)	3,87 (0,34)	0 (—)	3/166 (1,8)	11/166 (6,6)
D/4 = 6,62	14	156/175 (10,9)	3,46 (0,32)	0 (—)	5/156 (3,2)	15/156 (9,6)
D/3 = 8,83	22	222/272 (18,4)	3,13 (0,39)	32 (14,4)	78/197 (39,6)	59/197 (30,0)
D/2,5 = 10,60	16	38/192 (80,2)	2,03 (0,43)	36 (94,7)	11/ 11 (100)	1/ 11 (9,1)
D/2 = 13,25	6	0/ 82 (100)	—	—	—	—
Métabolite C						
D/5 = 5,62	23	263/278 (5,4)	3,85 (0,44)	0 (—)	4/263 (1,5)	8/263 (3,0)
= 6,00	14	116/124 (6,5)	3,95 (0,33)	0 (—)	1/ 79 (1,3)	2/ 79 (2,5)
D/4 = 7,02	15	192/211 (9,0)	3,51 (0,31)	0 (—)	9/129 (6,5)	15/139 (10,8)
D/3 = 9,36	24	118/324 (63,6)	2,95 (0,62)	24 (20,3)	50/100 (50)	7/100 (7,0)
D/2,5 = 11,24	11	1/171 (99,4)	2,50 (—)	1 (100)	1 /1 (100)	0/ 1 (—)
D/2 = 14,05	7	0/ 89 (100)	—	—	—	—
Métabolite A						
D = 29,7	15	200/207 (3,5)	3,85 (0,26)	0 (—)	1/200 (0,5)	0 (—)
2 D = 59,4	13	173/179 (3,4)	3,86 (0,27)	0 (—)	1/162 (0,6)	10/162 (6,2)
Métabolite B						
D = 31,3	10	116/125 (7,2)	4,22 (0,51)	0 (—)	0 (—)	0 (—)
2 D = 62,6	14	188/190 (1,1)	4,03 (0,32)	0 (—)	4/188 (2,1)	1/188 (0,5)
Métabolite E						
D = 31,3	3	35/ 36 (2,8)	3,79 (0,25)	0 (—)	0 (—)	0 (—)
2 D = 62,6	9	110/120 (8,3)	3,37 (0,41)	0 (—)	2/110 (1,8)	0 (—)
Métabolite F						
D/3 = 8,43	3	44/ 44 (—)	4,00 (0,30)	0 (—)	1/ 44 (2,3)	0 (—)
2 D = 50,58	3	44/ 45 (2,2)	3,94 (0,34)	0 (—)	0 (—)	0 (—)
Métabolite X						
2 D = 41,4	15	169/175 (3,4)	4,03 (0,38)	1 (0,6)	1/169 (0,6)	7/169 (4,1)
Métabolite J						
2 D = 44,6	11	106/118 (10,2)	4,03 (0,38)	0 (—)	1/106 (0,9)	3/106 (2,8)
Métabolite I						
D = 23,9	4	49/ 51 (3,9)	4,00 (0,21)	0 (—)	0 (—)	0 (—)
2 D = 47,8	14	164/171 (4,1)	4,04 (0,30)	1 (0,6)	1/164 (0,6)	1/164 (0,6)
4 D = 95,6	15	194/201 (3,5)	3,79 (0,34)	0 (—)	4/194 (2,1)	4/194 (2,1)
Métabolite H						
2 D = 50,6	10	95/103 (7,8)	3,99 (0,29)	0 (—)	0 (—)	2/ 95 (2,1)

DESCRIPTIF DES ANOMALIES

LOT CONTROLE :

anomalies externes	1 (0,23 %)
exencéphalie	
anomalies osseuses	5 (1,35 %)
anomalie squamosal	2
absence 13ème côte droite	1
13ème côte raccourcie	1
dilatation extrémité fémur	1

MÉTABOLITE P :

DOSE D/5 = 5,30 mg/kg

anomalies externes	1 (0,34 %)
polydactylie pouce postérieur	
anomalies osseuses	5 (1,69 %)
anomalie interoccipital	2
pariétal	1
corps vertébral asymétrique	1
corps vertébral D-12 bipartite	2
corps D10 et D11 bilobés	1

DOSE = 6,00 mg/kg

anomalies externes	0
anomalies osseuses	3 (1,81 %)
corps vertébraux bipartites	2
absence 13ème côte	1

DOSE D/4 = 6,62 mg/kg

anomalies externes	0
anomalies osseuses	5 (3,20 %)
corps vertébraux bipartites	4
malposition 13ème côte droite	1

DOSE D/3 = 8,83 mg/kg

anomalies externes	32 (14,4 %)
brachyourie	14
exencéphalie	9
méningocèle	6
ectrodactylie	5
bec-de-lièvre	3
dysmélie	2
omphalocèle	1
anomalies osseuses	78 (39,6 %)
corps vertébraux bipartites	68
fusions costales	13
fragmentations costales	5
ectopies vertébrales	4
occipital bipartite	2
absence 13ème côte	1
anomalie atlas	1

DOSE D/2,5 = 10,60 mg/kg

anomalies externes	36 (94,7 %)
brachyourie	26
ectrodactylie	9
exencéphalie	4
bec-de-lièvre	3
syndactylie	2
dysmélie	2
ectocardie	2
méningocèle	1
brachygnathie	1
protrusion de la langue	1
malformation complexe	1

anomalies osseuses	11 (100 %)
corps vertébraux bipartites	6
fusions costales	5
fusions vertébrales	4
fusions arcs vertébraux	3
occipital bipartite	2
ectopie vertébrale	2
raccourcissement fémur	2
côte flottante	2
inter-pariétal bipartite	1
anomalie scapula	1
anomalie interpariétal	1
sternum non segmenté	1
incurvation du tibia	1
côtes raccourcies	1

MÉTABOLITE C :

DOSE D/5 = 5,62 mg/kg

anomalies externes	0
anomalies osseuses	4 (1,52 %)
anomalie interpariétal	2
corps vertébral asymétrique	1
absence ossification vertèbres S ₄ S ₅	1

DOSE = 6,00 mg/kg

anomalies externes	0
anomalies osseuses	1 (1,26 %)
corps vertébral bipartite	

DOSE D/4 = 7,02 mg/kg

anomalies externes	0
anomalies osseuses	9 (6,47 %)
corps vertébraux bipartites	10
anomalie interpariétal	1
fusion costale	1

DOSE D/3 = 9,36 mg/kg

anomalies externes	24 (20,3 %)
brachyourie	19
ectrodactylie	6
bec-de-lièvre	5
dysmélie	4
méningocèle	3
exencéphalie	2
omphalocèle	2
brachygnathie supérieure	1
syndactylie	1
« big toe »	1
œdème	1
malformation complexe	1
anomalies osseuses	50 (50 %)
corps vertébraux bipartites	44
fusions costales	12
anomalie de l'atlas	5
occipital bipartite	4
aplasie de l'hyoïde	3
côtes raccourcies	2
côtes fragmentées	1
absence 13ème côte	1

DOSE D/2,5 = 11,24 mg/kg

anomalies externes	1 (100 %)
craniorachischisis + anourie	
dysmélie post. droite + protrusion	
de la langue	
anomalies osseuses (non examiné)	

MÉTABOLITE A :

DOSE D = 29,7 mg/kg

anomalies externes	0
anomalies osseuses	1 (0,5 %)
dilatation extrémité fémur	

DOSE 2 D = 59,4 mg/kg

anomalies externes	0
anomalies osseuses	1 (0,57 %)
fragmentation hypocondre	

MÉTABOLITE B :

DOSE D = 31,3 mg/kg

anomalies externes	0
anomalies osseuses	0

DOSE 2 D = 62,6 mg/kg

anomalies externes	0
anomalies osseuses	4 (2,1 %)
anomalies pariétal	2
anomalies arcs lombaires et sacrés	2
absence hyoïde	1
anomalie occipital	1
squamosal	1
côte vestigiale	1

MÉTABOLITE E :

DOSE D = 31,3 mg/kg

anomalies externes	0
anomalies osseuses	0

DOSE 2 D = 62,6 mg/kg

anomalies externes	0
anomalies osseuses	2 (1,8 %)
corps vertébral bipartite	1
fragmentation hypocondre	1

MÉTABOLITE F :

DOSE D/3 = 8,43 mg/kg

anomalies externes	0
anomalies osseuses	1 (2,27 %)
corps vertébral bilobé asymétrique	

DOSE 2 D = 50,58 mg/kg

anomalies externes	0
anomalies osseuses	0

MÉTABOLITE X :

DOSE 2 D = 41,4 mg/kg

anomalies externes	1 (0,59 %)
œdème généralisé	
anomalies osseuses	1 (0,59 %)
insuffisance ossification voûte crânienne	

MÉTABOLITE J :

DOSE 2 D = 44,6 mg/kg

anomalies externes	0
anomalies osseuses	1 (0,9 %)
interpariétal tronqué	

MÉTABOLITE I :

DOSE D = 23,9 mg/kg

anomalies externes	0
anomalies osseuses	0

DOSE 2 D = 47,8 mg/kg

anomalies externes	1 (0,61 %)
anourie + raccourcissement du rachis	
anomalies osseuses	1 (0,61 %)
corps vertébral bipartite	

DOSE 4 D = 95,6 mg/kg

anomalies externes	0
anomalies osseuses	4 (2,1 %)
anomalie interpariétal	2
fragmentation hypocondre	2

MÉTABOLITE H :

DOSE 2 D = 50,6 mg/kg

anomalies externes	0
anomalies osseuses	0

D'où l'essai associant l'Albendazole à l'inhibiteur d'oxydation microsomale qu'est le diphényl-valérate de diethyl-amino-éthanol ou SKF-525-A.

L'Albendazole (ou son métabolite C) est administré dans les mêmes conditions que lors de l'essai antérieur. Le SKF-525-A est administré en 2 fois dans la journée par la même voie :

- 120 mg/kg 1 heure avant le métabolite
- 60 mg/kg 5 heures après le métabolite.

Les résultats obtenus, rassemblés dans le Tableau III, indiquent que :

— l'Albendazole à la dose D/2,5 est nettement embryotoxique puisqu'à cette posologie il entraîne à la fois des manifestations embryoléthales, tératogènes et fœtotoxiques,

— en revanche, l'association au SKF-525-A provoque l'abolition totale des effets toxiques de l'albendazole. Le déficit pondéral observé avec l'association par rapport au lot-témoin (3,26 g contre 3,90 g) est imputable au SKF-525-A comme l'indique la répétition d'un tel essai dans des conditions d'administration ponctuelle.

— attendu que SKF-525-A inhibe probablement la conversion hépatique de l'albendazole en métabolite sulfoxyde, ces résultats donnent à penser que le médicament lui-même est dénué des effets qui lui étaient antérieurement dévolus puisqu'il n'est actif que dans la mesure où il est métabolisé.

— cependant, contrairement à ce que l'on pourrait attendre, SKF-525-A ne potentialise pas les effets du métabolite C. Seule, une étude métabolique précise permettrait de donner une interprétation décisive de ces faits.

TABLEAU III

EFFET DU SKF-525-A SUR L'EMBRYOTOXICITÉ
DE L'ALBENDAZOLE ET DE SON MÉTABOLITE C

Traitement	Nb Rates	Fœtus/Implant. = Embryo-léthalité	Anomalies		Poids Fœtus m (s)
			Externes n (%)	Osseuses n/N (%)	
/	36	434/467 = 7,1 %	1 (0,2)	5/369 (1,4)	3,90 (0,31)
Albendazole 10,6 mg/kg	16	38/192 = 80,2	36 (94,7)	11/ 11 (100)	2,03 (0,43)
Albendazole 10,6 mg/kg SKF-525-A : 120 + 60 mg/kg	9	109/113 = 3,5	0 (—)	14/109 (12,8)	3,26 (0,38)
Métabolite C 7,02 mg/kg	15	192/211 = 9,0	0 (—)	9/139 (6,5)	3,51 (0,31)
Métabolite C 7,02 mg/kg SKF-525-4 : 120 + 60 mg/kg	8	85/ 91 = 6,6	0 (—)	2/ 85 (2,4)	3,38 (0,38)

F. — CONCLUSION

L'Albendazole est embryotoxique chez le rat. Cette embryotoxicité se traduit à la fois par des manifestations embryoléthales, tératogènes et fœtotoxiques.

L'étude de l'effet-dose dans un intervalle compris entre 5,30 mg/kg et 13,25 mg/kg montre que la dose sans effet (D.S.E.) est de 6,00 mg/kg. Lors d'administration de posologies croissantes, la manifestation la plus précoce est l'effet fœtotoxique, qui est significatif à la dose de 6,62 mg/kg. Au-delà de cette posologie apparaissent successivement l'embryoléthalité puis les manifestations tératogènes proprement dites.

Des constatations identiques avaient été antérieurement faites pour d'autres représentants de la même famille chimique tel que le Parbendazole.

L'étude systématique de l'embryotoxicité de 10 métabolites a permis de dégager la responsabilité de huit d'entre eux. Seul, l'Albendazole ainsi que son métabolite sulfoxyde reproduisent ces effets.

L'association de ces deux composés à un inhibiteur métabolique (SKF-525-A) a permis de disculper totalement l'Albendazole lui-même, et de reporter très probablement la responsabilité de cette toxicité sur le métabolite C.

La pharmacologie nous donne de nombreux autres exemples pour lesquels l'activité ou la toxicité d'un médicament est à mettre en relation avec sa métabolisation (phénylbutazone, imipramine, etc...).

CHAPITRE IV

CONFRONTATION DE L'EMBRYOTOXICITÉ DE RELAIS AVEC L'EMBRYOTOXICITÉ INDIVIDUELLE DES MÉTABOLITES

La toxicité éventuelle des résidus de l'Albendazole a été étudiée par deux méthodes :

- d'une part l'étude individuelle de 10 métabolites extractibles (Thèse Doct. Vét. MARTIN D.)
- d'autre part, l'étude toxicologique des résidus totaux à l'aide de la méthode d'embryotoxicité de relais (Thèse Doct. Vét. GRANNEC C.).

Dans le premier cas, il a été montré expérimentalement que parmi les 10 métabolites étudiés, deux d'entre eux en première approximation, sont responsables des effets biologiques observés. Mais la molécule de départ, atoxique par elle-même, voit sa toxicité révélée dans la mesure où elle est convertie en sulfoxyde. La dose sans effet de chacun de ces 2 composés chez le rat est de 6,00 mg/kg par intubation gastrique.

Dans le deuxième cas, les animaux d'expérience ont eu à libre disposition un aliment semi-synthétique au sein duquel les protéines (23 %) étaient apportées exclusivement par du lyophilisat de foie de bœuf. Les foies avaient été collectés 24 h, 48 h

et 96 h après traitement par l'albendazole à la dose expérimentale de 20 mg/kg, soit 2,7 à 4 fois la dose thérapeutique préconisée. Par rapport au lot d'animaux ayant reçu le foie de bœuf non traité, aucune manifestation embryotoxique significative n'a été décelée.

Etant donné la distinction classiquement faite au sein des résidus totaux entre résidus extractibles et résidus liés, les 2 expérimentations abordent la question des résidus de façon différente. L'étude individuelle des métabolites a abordé la toxicité éventuelle des seuls résidus extractibles ; la toxicité de relais a pris en considération les résidus totaux dans leur ensemble.

Il convient tout d'abord de noter que les biodisponibilités de ces deux types de résidus sont très dissemblables. En effet, celles de l'albendazole lui-même et de son métabolite C sont respectivement de 31 % et de 73 % alors que celle des résidus liés est de l'ordre de 5 %.

La contradiction existant entre les résultats de ces deux investigations n'est qu'apparente. En effet, si par étude toxicologique individuelle, la nocivité du métabolite C a été bien établie, cet effet ne peut se manifester lors de la toxicité de relais puisque compte tenu de sa teneur dans le foie à la 24ème heure après traitement (11 ppm), de la valeur du lyophilisat par rapport au poids d'organe frais (29,9 %), du taux d'incorporation du lyophilisat à l'aliment (38,7 %) et de la consommation alimentaire moyenne par les rates gestantes (92 g/kg p.v./j.), l'ingestion effective de métabolite C s'élève à environ 1,3 mg/kg alors que la dose sans effet est de 6,00 mg/kg par intubation gastrique et de 12 mg/kg (dans le cas de l'albendazole inchangé) par incorporation à la diète.

L'embryotoxicité de relais explore également la fraction non extractible des résidus totaux. Mais le coefficient de sécurité de cette dernière fraction n'est que de 200 contre 75 750 pour celui du métabolite C. Une façon, habituellement employée, d'augmenter ce coefficient serait d'accroître la quantité de résidus consommée par les animaux d'expérience. Il faudrait alors élever considérablement le taux d'incorporation du lyophilisat de

foie à un aliment standard. Cette méthode aurait pour effet de constituer une diète très hyper protidique susceptible d'induire des troubles de la reproduction ainsi qu'une réduction de la consommation alimentaire. C'est précisément dans le but de concilier les impératifs nutritionnels tout en accédant à un coefficient aussi élevé que possible qu'il a été fait recours à une diète semi-synthétique.

En matière d'embryotoxicité de relais, ces paramètres semblent donc constituer un facteur limitant de la méthode.

Au demeurant, l'évaluation théorique du coefficient de sécurité des résidus liés à la valeur 200 doit être pondérée par les trois considérations suivantes :

— le comportement alimentaire du rat est très différent de celui de l'homme. La prise d'aliment chez cet animal s'échelonne durant toute la nuit, tandis que l'homme s'alimente essentiellement à la faveur de 2 repas principaux. Il en résulte des pharmacocinétiques très dissemblables. Chez le rat, l'étude de la toxicité de l'albendazole et de son métabolite sulfoxyde a permis d'établir une dose sans effet commune de 6,00 mg/kg/jour lors d'administration ponctuelle et de 12,0 mg/kg/jour lors d'ingestion continue de l'aliment. Si chez l'homme, du fait d'une situation intermédiaire, on admettait une Dose Journalière Acceptable calculée à partir de 9,0 mg/kg/jour, la valeur du coefficient de sécurité des résidus liés se trouverait abaissée de 25 %. Mais, par ailleurs :

— la dose expérimentale employée est 4 fois supérieure à la dose strongylicide préconisée, en thérapeutique,

— les délais d'abattage étant généralement très supérieurs au délai d'attente légal, les taux résiduels sont considérablement inférieurs à ceux ayant servi de base aux calculs.

En conséquence, le coefficient pratique de sécurité des résidus liés est certainement considérablement plus élevé que la valeur théorique antérieurement indiquée.

CONCLUSIONS

En vue d'une étude méthodologique expérimentale d'évaluation de la toxicité des résidus, l'Albendazole a été choisi en raison de la nature de ses effets secondaires et de notre bonne connaissance de sa pharmacocinétique et de son métabolisme chez les ruminants.

Cette évaluation toxicologique a été conduite parallèlement, d'une part par la méthode d'embryotoxicité de relais, d'autre part, par l'étude de la toxicité individuelle de dix métabolites.

Dans les conditions de l'expérimentation, il n'a pas été possible par toxicité de relais, de mettre en évidence des propriétés embryotoxiques des résidus totaux abandonnés dans le foie de bovins traités par ce médicament.

La seconde expérimentation a permis de montrer que le métabolite sulfoxyde de l'Albendazole reproduit à lui seul les effets secondaires originellement attribués à l'Albendazole lui-même.

Cette constatation concernant la seule fraction extractible des résidus totaux permet d'expliquer, compte tenu du niveau résiduel du métabolite sulfoxyde, l'absence de toxicité des résidus hépatiques.

La mise en œuvre simultanée de ces 2 méthodes donne des résultats expérimentaux parfaitement compatibles. Cependant,

bien que les objets de ces 2 études ne soient pas superposables, les résultats de la toxicité de relais, méthode globale, se trouvent confirmés et surtout éclairés par l'étude plus analytique des métabolites considérés individuellement.

Le Directeur
de l'Ecole Nationale
Vétérinaire de Lyon,
Prof. COTTEREAU

Le Professeur Responsable
de l'Ecole Nationale Vétérinaire,

Prof. DELATOUR

Le Président de la Thèse,
Prof. FAUCON

Vu et permis d'imprimer,
LYON, le 28 Avril 1980

Président de l'Université Lyon I
D. GERMAIN

BIBLIOGRAPHIE

- Arrêté Interministériel du 4 Juillet 1977 : Protocole applicable aux essais toxicologiques et pharmacologiques des médicaments vétérinaires. J. O. 30 juillet 1977, Chap. I.D., 4567-4568.
- BAER J.E., JACOB T.A. et WOLF F.J. — Cambendazole and non-drug macromolecules in tissue residues. J. of Tox. and Env. Health 1977, **2**, 895-903.
- DAWSON A.B. — A note on the staining of the skeleton of cleared specimens with alizarin red. S. Stain technology, 1926, **1**, 123.
- DELATOUR P. et RICHARD Y. — Propriétés embryotoxiques et antimitotiques en série benzimidazole. Thérapie, 1976, **31**, 505-515.
- DI CARLO F.J., VIAU J.P. et MELGAR M.D. — Incorporation of radioactivity from 14-C-nitroglycerine into rat liver glycogen lipid, protein, ribonucleic acid and DNA. Biochem. Pharmacol., 1969, **18**, 965-970.
- DI CUOLLO C.J., MILLER J.A., MENDELSON W.L. et PAGANO J.F. — Metabolic and tissue residue studies on Parbendazole in sheep. J. Agric. Food Chem. 1974, **22**, 948-953.
- FERRANDO R. et TRUHAUT R. — La toxicité de relais. Nouvelle approche pour la méthodologie d'évaluation toxicologique des additifs aux aliments des animaux d'élevage. C.R. Acad. Sc. 1972, 275, D, 279-283.
- FERRANDO R., TRUHAUT R., RAYNAUD J.P. et SPANOGHE J.P. — Application de la méthodologie « toxicité de relais » à l'évaluation de la sécurité d'emploi pour les consommateurs humains du Cardabox, facteur de croissance, ajouté à la ration du porc charcutier. Toxicology, 1975, **3**, 369-398.

FERRANDO R. et TRUHAUT R. — Aspects généraux de la toxicité de relais. Ses applications. Symposium international sur la toxicité de relais et la biodisponibilité des résidus. Paris, Octobre 1978.

HERLICH H. — Anthelmintic Efficacy of Albendazole in Cattle : Comparison of Critical and Controlled Test. Am. J. Vet. Res., 1977, **38**, 1247-1248.

HERRETT R.J., WILLIAMS C.W., HEOTIS J.P. et BUZARD J.A. — Metabolism of 5-Nitro-2-furaldehyde acetylhydrazone —C14 (Nihydrazone) in the chick. J. Agric. Food Chem. 1967, **15**, 433-438.

HUTSON D.H., BLAIR D., HOODLEY E.C. et PICKERING B.A. — The metabolism of 14-C-Vapona in rats after administration by oral and inhalation routes. Tox. Appl. Pharmacol. 1971, **19**, 378-379.

JAGLAN P.S., GOSLINE R.E. et NEFF A.W. — Metabolic fate of Foluoyl chloride phenylhydrazone (TCPH) in sheep. The nature of bound residues in erythrocytes. J. Agric. Food. Chem. 1976, **24**, 659.

JAGLAN P.S., GLENN M.W. et NEFF A.W. — Experiences in dealing with drug-related bound residues. J. Toxicol. Env. Health, 1977, **2**, 815-826.

KNIGHT R.A. and COLGLAZIER H.L. — Albendazole as a Fasciolicide in Experimentally Infected Sheep. Am. J. Vet. Res. 1976, **38**, 807-808.

LOEFFLER J.E., DE VRIES D.M., YOUNG R. et PAGE A.C. — Metabolite fate of inhaled dichlorvos in pigs. Tox. Appl. Pharmacol. 1971, **19**, 378.

PAGE A.C., DE VRIES D.M., YOUNG R. et LOEFFLER J.E. — Metabolite fate of ingested dichlorvos in swine. Tox. Appl. Pharmacol. 1971, **19**, 378.

ROSENBLUM C., TACCO D.J. et HOWE E.E. — Complications in residue studies with radioisotopic drugs. Second Annual Oak Ridge Radioisotopes Conference, 19-22 avril 1964.

ROSENBLUM C. — Non metabolite-residues in radioactive tracer studies, in « Isotopes in experimental Pharmacology ». L.J. Roth Ed. Univ. of Chicago Press 1965, 353-360.

- ROSENBLUM C., TRENNER N.R., BUHS R.P., HIREMATH C.B., KONINSZY F.R. et WOLF D.E. — Metabolism of Ronidazole (l-methyl-5-nitroimidazole-2 yl, methyl carbamate). J. Agric. Food Chem. 1972, **20**, 360-371.
- ROSS D.B., EICHLER D.A., CAMERON D. — The effect of Albendazole on nematode parasites in experimentally infected lambs. Vet. Record, 1978, **102**, 556-557.
- THEODORIDES V.J., GYURIK R.J., KINGSBURY W.D., PARISH R.C. — Anthelmintic Activity of Albendazole Against Liver Flukes, Tapeworms, Lung and Gastrointestinal Roundworms. Experientia, 1976, **32**, 702.
- THEODORIDES V.J., NAWALINSKI T. and CHANG T. — Efficacy of Albendazole against *Haemonchus*, *Nematodirus*, *Dictyocaulus* and *Moniezia* of Sheep. Am. J. Vet. Res. 1976, **37**, 1515-1516.
- THEODORIDES V.J., WAWLINSKI T., MURPHY J. and FREEMAN J. — Efficacy of Albendazole Against Gastrointestinal Nematodes of Cattle. Am. J. Vet. Res. 1976, **37**, 1517-1518.
- VANDEN HEUVEL W.J.A., WOLF D.E. ARISON B.H., BUHS R.P., CARLIN J.R., ELLSWORTH R.L., JACOB A.J., KONINSZY F.R., SMITH J.L., TRENNER N.R. WALKER R.W. et WOLF F.J. — Urinary metabolites of Cambendazole J. Agric. Food Chem. 1978, **26**, 1357-1364.
- WEINER H. and NEWBERNE J.W. — Drug Metabolites in the Toxicologic Evaluation of Drug Safety. Tox. and Appl. Pharmacol. 1977, **41**, 231-233.
- WILLIAMS J.C., KNOX J.W., SHEEHAN D., FUSELIER R.H. — Efficacy of albendazole against inhibited early fourth stage larvae of *Ostertagia ostertagi*. Vet. Record. 1977, **101**, 484-486.
-

